



TITLE:

Glycolysis, but not Mitochondria,  
responsible for intracellular ATP distribution  
in cortical area of podocytes( Abstract\_要旨  
)

AUTHOR(S):

Ozawa, Shota

---

CITATION:

Ozawa, Shota. Glycolysis, but not Mitochondria, responsible for intracellular ATP distribution in cortical area of podocytes. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-01-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13067>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	小 沢 将 太
論文題目	Glycolysis, but not Mitochondria, responsible for intracellular ATP distribution in cortical area of podocytes (腎糸球体ポドサイトにおける細胞辺縁部 ATP レベルは、ミトコンドリアではなく解糖系が規定する)		
(論文内容の要旨)			
<p>慢性腎臓病は年々罹患率が増加の一途を辿り、現在では 1330 万人の患者が国内には存在すると推測されている。この慢性腎臓病の発症・進展の機序の一つが腎糸球体構成細胞の 1 つであるポドサイトの機能異常である。正常なポドサイトは血液濾過や原尿生成に関与しているため、その異常が腎臓機能を障害するのである。それらの重要な役割を可能にしているのはその特殊な細胞形態であるが、現時点ではその細胞形態がどのように維持されているのかは不詳である。</p> <p>一般的に、細胞の機能・構造維持に必須なエネルギー供給分子はアデノシン三リン酸 (ATP) であり、解糖系及びミトコンドリア酸化的リン酸化経路から産生される。解糖系における ATP 産生はミトコンドリア経路と比べ非効率的である。しかしながら、解糖系では ATP 産生過程で種々の生物学的な副産物を産生するので、ミトコンドリアとは異なる役割を担っている可能性がある。ポドサイトではミトコンドリアと解糖系の両者により ATP 産生が行われていることが報告されているが、細胞内におけるそれぞれの役割は不明である。</p> <p>本研究では、ポドサイトの特殊形態における、ミトコンドリアと解糖系のそれぞれの役割を検討した。</p> <p>まず、培養ポドサイトにおいて、ミトコンドリアあるいは解糖系のそれぞれを個別に阻害する条件を検討した。その結果、10μM Antimycin によりミトコンドリア経路を阻害できることを、また 10mM 2-deoxyglucose (2-DG) あるいは 100mM 2-DG により解糖系を部分的あるいは完全に阻害できることが明らかとなった。</p> <p>そこで培養ポドサイトの辺縁部に存在する lamellipodia の形成とその機能の一つである細胞運動能におけるエネルギー代謝の影響を検討した。その結果、解糖系阻害では lamellipodia の消失や運動能の減少が認められたが、ミトコンドリア阻害ではその現象が認められなかった。またこの現象は解糖系の律速酵素 Phosphofructokinase (PFK) の遺伝子発現を抑制することでも確認された。さらにミトコンドリア阻害と解糖系部分的阻害の影響を比較すると、細胞内 ATP 量は同程度の場合であっても、その両者には有意な差が認められた。これらの結果より、ミトコンドリアではなく解糖系が lamellipodia 形成及び運動能を制御していると考えられた。一方で、ミトコンドリアの細胞内分布を Mitotracker にて検討してみると、それは核周辺に集合し lamellipodia が存在する細胞辺縁部には存在しないことも明らかとなった。</p> <p>メカニズムを明らかにするために、解糖系由来 ATP が細胞内 ATP 分布に与える影響を検討した。検討には、FRET を原理とした ATP プローブ (ATeam) を用いた。細胞辺縁部の ATP は、解糖系を阻害すると消失したが、ミトコンドリア阻害による影響は認められなかった。</p> <p>また、マウス腎臓ポドサイトのミトコンドリアは、細胞体やその近傍に存在す</p>			

<p>るが、末端部である足突起には認められなかった。一方、解糖系律速酵素 PFK は足突起マーカーの Nephrin と共局在していた。生体内ポドサイト先端にミトコンドリアが存在しない所見は、培養細胞と類似していた。</p> <p>最後に、糸球体構成細胞の 1 つであるメサンギウム細胞においても検討したところ、辺縁部の ATP 分布及び運動能はミトコンドリアにも依存しており、細胞間で異なることが示唆された。</p> <p>以上より、ポドサイトの細胞内辺縁部における ATP 供給に重要な役割を担っているのは解糖系であり、その役割はミトコンドリアと異なることが明らかとなった。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>腎臓糸球体細胞の 1 つであるポドサイトは、血液を濾過して尿を産生する過程に関与している。ポドサイトの特殊な形態維持にはエネルギー源である ATP が必要と思われるが、ポドサイトの ATP 産生システムに焦点を当てた報告はない。そこで、培養ポドサイトにおいて ATP 産生システムである解糖系とミトコンドリアのそれぞれの役割に注目した。ミトコンドリアは分布に不均一性が見られ、特に希薄である細胞辺縁部では、ポドサイトの形態や機能が解糖系に依存している可能性が示唆された。従来、生細胞内の ATP の評価は困難とされていたが、本研究では細胞内 ATP プローブを用いることで、経時的にその状態を観察することに成功している。その結果、ポドサイトの細胞内辺縁部における ATP 供給がミトコンドリアではなく解糖系により行われていることが明らかとなった。マウスポドサイトの検討では、培養細胞同様にミトコンドリアは細胞体中心部に偏在し、辺縁部である足突起にはその存在が認められなかった。一方で、解糖系酵素が足突起マーカーと共局在することが明らかにされた。</p> <p>以上の研究は、これまで不明であったポドサイトでのエネルギー代謝に着目したものであり、特に解糖系由来の ATP が細胞の辺縁部に重要な役割をもつことを示唆するものである。本研究は、ポドサイト障害を起因とする腎臓病発症機序を理解する上で、今後の医学研究に寄与するものと考えられる。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 12 月 13 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。</p>
--